

Aus den Medizinischen Kliniken und Polikliniken
Justus Liebig-Universität Giessen

Direktoren: Prof. Dr. H. G. Lasch, Prof. Dr. H. Döngler
Abteilung: Prof. Dr. H. G. Lasch

Gerinnungsstörungen im Verlauf der akuten Schweinepest

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
des
Bereiches Humanmedizin
der
Justus Liebig-Universität Giessen

vorgelegt von

Norbert Winzler

aus Kleinmachnow - Berlin

1972

Aus den Medizinischen Kliniken und Polikliniken
Justus Liebig-Universität Giessen

Direktoren: Prof. Dr. H. G. Lasch, Prof. Dr. H. Dengler
Abteilung: Prof. Dr. H. G. Lasch

Gerinnungsstörungen im Verlauf der
akuten Schweinepest

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
des
Bereiches Humanmedizin
der
Justus Liebig-Universität Giessen

vorgelegt von

Norbert Winzler

aus Kleinmachnow - Berlin

1972



Dekan: Prof. Dr. H.J. Staudinger

Referent: Prof. Dr. D. L. Heene

Korreferent: Prof. Dr. Fr. Koch

INHALTSVERZEICHNIS

EINLEITUNG.....	1
MATERIAL UND METHODIK.....	9
ERGEBNISSE.....	28
DISKUSSION.....	41
ZUSAMMENFASSUNG.....	55
TABELLEN.....	58
LITERATUR.....	73

E I N L E I T U N G

Das hämostatische Potential resultiert aus der Bilanz eines Stoffwechselprozesses, der sich im wesentlichen aus der Synthese von Gerinnungsfaktoren, deren kontinuierlichem Umsatz und Abbau in der Blutbahn, und der Clearance der Endprodukte der Gerinnung und Fibrinolyse, gliedert (4). Die Synthese der Faktoren des Prothrombinkomplexes, die Vitamin-K-abhängig ist, und des Fibrinogens erfolgt in der Leber (13,32,33). In der Blutbahn befinden sich die Gerinnungsfaktoren in einem ständigen physiologischen Umsatz, der latenten Gerinnung (32). Die Zwischen- und Endprodukte, die während dieser latenten Gerinnung entstehen, werden von verschiedenen Kontrollsystemen neutralisiert. Somit wird eine Anhäufung von prokoagulatorischem Material verhindert.

Dem retikuloendothelialen System wird eine wesentliche Bedeutung in diesem Kontrollsystem zugeschrieben. So konnte gezeigt werden, daß das RES in der Lage ist, Thromboplastin und kleine Fibrinaggregate zu phagozytieren (37,38,58). Weiterhin greifen

Fibrinolyse und mehrere Antithrombine in dieses Kontrollsystem ein (4,36). Unter physiologischen Bedingungen steht das Gerinnungssystem somit in einem dynamischen Gleichgewicht, das durch prokoagulatorische und antikoagulatorische Valenzen aufrecht erhalten wird.

Ist dieses Wechselspiel im Blutgerinnungsmechanismus gestört, so können sowohl thrombotische als auch hämorrhagische Symptome entstehen. Eine solche Störung ist die Verbrauchskoagulopathie, die infolge eines disseminierten intravaskulären Gerinnungsprozesses auftreten kann. Sie ist gekennzeichnet durch den Verbrauch von Thrombozyten und Gerinnungsfaktoren, ein Vorgang, der zu einem fortschreitenden Verlust des aktuellen hämostatischen Potentials führt und in schweren Fällen Anlaß von ausgedehnten Hämorrhagien ist. Morphologisch bilden sich Fibrinthromben in den Endstrombahnen der Organe aus (34,35,36).

Um 1830 wurde man zum ersten Mal auf eine Erkrankung beim Schwein aufmerksam, die mit ausgeprägten Hämorrhagien einherging. Diese Krankheit, die akute Schweinepest, erscheint als eine hochinfektiöse septikämische

Virusinfektion, die fast immer in wenigen Tagen bis Wochen zum Tode führt. Die klinischen Symptome, die 2-3 Tage nach der Infektion auftreten, beginnen gewöhnlich mit Fieber, Fressunlust und Müdigkeit. Im weiteren Verlauf der Erkrankung kommt es zu einer hämorrhagischen Enteritis, Vomitis und cerebralen Erscheinungen, wobei Zwangsbewegungen und Krämpfe besonders auffallen. Die Endphase der Erkrankung ist unter anderem durch massive Blutungen in fast allen Organen gekennzeichnet (16,52).

Die histologischen Untersuchungen zeigten eine Schädigung der Darmschleimhaut, diffuse Blutungen in fast allen Organen, Gefäßläsionen und multiple Thromboembolien (52). Auf der Dick- und Dünndarmschleimhaut sind häufig Fibrinabscheidungen zu sehen. Besonders ausgeprägt waren Veränderungen an den Gefäßen, die nicht nur auf eine Schädigung durch das im Blut zirkulierende Virus, sondern auch durch eine Virusvermehrung in den Endothelzellen der Blutgefäße zustande kamen (47,48). Außerdem wurden Fibrinthromben in den kleinen und mittleren Gefäßen vieler Organe beschrieben, be-

sonders in den Milzgefäßen, der Vasa efferentia der Nieren und in den Lymphknoten (51, 55). Sekundär führten diese Gefäßveränderungen zu hämorrhagischen und nekrotischen Prozessen in den zugehörigen Organen.

Hämorrhagien, von leichtem bis schwerem Ausmaß, werden im Verlauf verschiedener Virusinfektionen angetroffen. Beim Menschen können unter anderem Pocken, Röteln, Masern und Erkrankungen, die durch bestimmte Arboviren hervorgerufen werden mit hämorrhagischen Diathesen einhergehen. So wurden bei schweren Pockenerkrankungen ausgedehnte Hämorrhagien in der Subcutis, Viscera und Hirn beschrieben (5,9,28,39). Bei diesen Beobachtungen wurde meist eine Thrombozytopenie und oft disseminierte Mikrothromben angetroffen (1,9). Bei Röteln wurde häufig auf das gleichzeitige Auftreten von Blutungen und Thrombozytopenie hingewiesen (3,12,42, 45). Hier wurden auch multiple Mikrothromben gefunden. Ebenso konnte bei Masern eine hämorrhagische Verlaufsform beobachtet werden, die mit Ekchymosen, Darmblutungen und Thrombozytopenie einherging (27). Zu den Arboviren, die Erkrankungen mit Hämorrhagien

verursachen, zählen unter anderem die Erreger des Kyasanur Forest Disease, des Philippine Hemorrhagic Fever und des Thai Hemorrhagic Fever. Bei dem Philippine Hemorrhagic Fever wurden Darmblutungen und Petechien häufig beobachtet. Oft bestand auch eine Thrombozytopenie (14,43). Hierbei konnte auch eine verminderte hämopoetische und megakaryozytische Leistung des Knochenmarks in etwa 15 % der Erkrankungsfälle nachgewiesen werden (14). Die Blutungen sind bei dem Kyasanur Forest Disease nicht so ausgeprägt, in manchen Fällen jedoch als Nasenbluten und blutiger Enteritis vorhanden. Eine deutliche Thrombozytopenie liegt oft vor; in einigen Fällen wurde eine Verlängerung der Gerinnungszeit beschrieben (8). Das Thai Hemorrhagic Fever weist Hämorrhagien bei fast allen Erkrankungsfällen auf, meist in Form von Petechien, Hämatemesis oder Melaena. Auch hier war eine Thrombozytopenie vorhanden (60).

Beim Tier verlaufen auch verschiedene Virusinfektionen mit Blutungen, so neben der Schweinepest auch die klassische Geflügelpest, das Newcastle Disease, die Rinderpest und die Hundestaupe. Bei der Geflügelpest sind Ekchymosen, Hämorrhagien und Mikrothromben fast immer vorhanden (52). Häufig wird eine ausgeprägte

Thrombozytopenie im Verlauf der Krankheit gesehen (15).

Diese Blutungen wurden seit langem als Diapedesisblutungen infolge einer Kombination von viraler Gefäßläsion und Thrombozytopenie gedeutet (48,56,57). Jedoch äußerte McKay die Vermutung, daß eine disseminierte intravasale Gerinnung eine wesentliche Rolle bei der Entstehung dieser Blutungen spielt (43). Er deutete auf die klinischen und pathologischen Befunde und Veränderungen im hämostatischen Mechanismus hin, die viele dieser Krankheiten gemeinsam haben.

Trotz der Vielgestaltigkeit der klinischen Symptome und des breiten Spektrums von Erregern sind Ähnlichkeiten in der Symptomatik bei fast allen dieser Erkrankungen vorhanden. Die klassischen Symptome sind unter anderem Fieber, Müdigkeit, Blutungsneigung, Konvulsionen, Erbrechen, Diarrhoe und Oligurie. Als Zeichen der hämorrhagischen Diathese werden fast immer Petechien, Ekchymosen, hämorrhagische Diarrhoen und Hämatemesis gesehen. Es kann aber auch zu Thrombosen und Blutungen in dem Zentralen-Nerven-System kommen und so zu Koma, Konvulsionen, Krämpfen und Lähmungen führen (5,8,10,43,60).

Histologisch weisen die Mehrzahl der Erkrankungs-fälle Plättchen- und Fibrinthromben in den kleinen Gefäßen und Kapillaren vieler Organe auf. Nach längerem Bestehen der Thromben kommt es zu Blutungen oder ischämischen Nekrosen an den betroffenen Organen. Organe, die am häufigsten betroffen waren, sind die Nieren, das Gehirn, die Leber, die Lungen und die Darmschleimhaut (43).

Es konnte festgestellt werden, daß diese Viruserkrankungen in der Regel mit einer Thrombozytopenie einhergehen, aber Untersuchungen des Gerinnungssystems wurden nur in wenigen Fällen durchgeführt (8,15,19,60,61). Hierbei konnten jedoch schwerwiegende Veränderungen im Gerinnungsmechanismus gefunden werden. So konnte Gagel bei Untersuchungen im Verlauf der klassischen Geflügelpest eindeutige Veränderungen im Gerinnungssystem im Sinne einer Verbrauchskoagulopathie feststellen (15). Sie konnte zeigen, daß im Verlauf der Erkrankung nicht nur die Thrombozytenzahl stark abnimmt, sondern auch die Aktivität der Faktoren II und VIII abfällt und eine allgemeine Verlängerung der Gerinnungszeit auftritt. In anderen Untersuchungen bei Ratten, die mit Chikungunya-Virus infiziert wurden, konnte neben

einer Thrombozytopenie eine Verlängerung der Blutungszeit, Gerinnungszeit und Prothrombinzeit sowie eine Abnahme der Aktivität der Faktoren V, VII und X festgestellt werden (19,61).

Da Heparin eine allgemeine intravasale Gerinnung verhindern kann, soll schließlich auf die Therapieerfolge mit Heparin bei dem Philippine Hemorrhagic Fever eingegangen werden (43). Heparin verminderte bei dieser Erkrankung die Blutungstendenz und führte zu einer schnelleren Normalisierung der Thrombozytenzahl und Gerinnungsfaktoren. Auch im Tierversuch konnte durch eine Heparinbehandlung die Blutungsneigung zum größten Teil unterdrückt werden, jedoch starben die Tiere meist an anderen Folgen der Erkrankung. Auch die Thrombozytenwerte waren während der Heparintherapie signifikant höher als bei den nicht behandelten Kontrolltieren (15,61).

Im Rahmen dieser Arbeit soll untersucht werden, ob die bei der akuten Schweinepest auftretende hämorrhagische Diathese durch eine allgemeine intravasale Gerinnung hervorgerufen wird. Zu diesem Zweck wurden bei Schweinen, die mit Schweinepestvirus infiziert worden waren, Gerinnungsanalysen und Behandlungsversuche mit Heparin und EACA durchgeführt.

MATERIAL UND METHODIK

Als Versuchstiere wurden aus 4 Würfen 19 deutsche veredelte Landschweine, davon 11 weibliche und 8 kastrierte männliche, genommen. Ihr Alter betrug zu Beginn des Versuches etwa 8 Wochen. Am Anfang des Versuches lag das Körpergewicht der Tiere zwischen 20 und 32 Kilogramm.

Um täglich Blut für die Gerinnungsanalysen abnehmen zu können, wurde ein Venenkatheter gelegt. Zu diesem Zweck wurden die Tiere mit Pentobarbital-Natrium (Narcoren^R Rentschler, 0,12 bis 0,15 ml/kg Körpergewicht) narkotisiert. Dann wurde nach der von Lydtin et al. angegebenen Methode (41) ein Venenkatheter (Fa. Braun, Melsungen, Nr. 5 oder 6) über die Vena cava cranialis in den rechten Vorhof bzw. bis in die Vena cava caudalis gelegt. Eine Spülung mit etwa 10 ml physiologischer Kochsalzlösung nach jeder Blutentnahme genügte, um den Katheter von Gerinnseln freizuhalten. Bei einigen Tieren mußte der Katheter jedoch erneuert werden. Die Infektion erfolgte 2-3 Tage nach Anlegen des Katheters. Die Virusdosis, die im Tierversuch einer Infektiosität von 10^7 entspricht, wurde entweder

subcutan (VS 5 und 6) oder über den Katheter verabreicht.

Zwei Tieren (VS 11 und 12) wurde Heparin (Calciparin^R Choay-Nattermann) während des Versuches verabreicht. Am ersten und zweiten Tag nach der Infektion wurde eine Dosis von 0,2 ml/die (5.000 IE Heparin bzw. 50 mg Heparin), danach eine Dosis von 2 x 0,2 ml/die (10.000 IE bzw. 100 mg Heparin) in das subcutane Bindegewebe hinter den Behängen injiziert. Zwei weiteren Tieren (VS 20 und 21) wurde zweimal täglich 10 ml EACA (Epsilonaminocapronsäure Roche) verabreicht.

Zur Durchführung der Gerinnungsanalysen und klinischen chemischen Untersuchungen wurde den Tieren 1 - 2mal täglich 15 ml/Citrat-Blut (Natrium citricum 3,8 %, 1:10) entnommen. Unmittelbar nach der Blutentnahme wurden die gerinnungsanalytischen Untersuchungen vorgenommen. Zur Gewinnung von plättchenarmem Plasma wurden die Proben 10 Minuten lang bei 2000 g/min zentrifugiert.

Folgende Untersuchungen wurden im Verlauf des Ver-

suches durchgeführt:

Thrombozytenzahl, Thrombelastographie, Thromboplastinzeit, partielle Thromboplastinzeit, Thrombinzeit, Einzelfaktorenbestimmung für Faktor II, V, VIII, X und XIII, Fibrinogen, qualitativer und quantitativer Äthanoltest, Protaminsulfat-test, Euglobulin-Lyse-Zeit und Hämatokrit. Die globalen Gerinnungstests wurden gemeinsam mit Frau Euler vorgenommen. Der klinische Verlauf sowie die Thrombozyten- und Einzelfaktorenbestimmungen der Faktoren II, V, VIII und X der unbehandelten Tiere wurden von Frau Euler verfolgt (11). Der Vollständigkeit halber werden die Werte der Einzelfaktoren graphisch oder tabellarisch in dieser Arbeit wiedergegeben. Der quantitative Äthanoltest und Protaminsulfat-test sowie die Faktoren VIII und X wurden nur bei den Versuchstieren 23 - 27 untersucht.

Die Gerinnungsanalysen wurden nach folgenden Methoden durchgeführt:

1. Thrombelastographie (nach Hartert (22))

Reagenzien und Material

1. 0.025 m CaCl_2 -Lösung
2. Paraffinöl
3. frisch silikonierte Pipetten und Röhrchen

Im Ansatz werden 0,6 ml Citratplasma und 0,4 ml 0,025 m CaCl_2 -Lösung versetzt. Von diesem rekalkifizierten Blut werden 0,4 ml in die Kuvette des Thrombelastographen gefüllt. Nach Senken des Stempels wird das Blut mit Paraffinöl luftdicht überschichtet. Die Elastizität und Festigkeit des sich zwischen Stempel und Kuvettenwand bildenden Gerinnsels wird fortlaufend auf Film registriert. Die Zeit vom Zusatz der CaCl_2 -Lösung bis zum Beginn der lichtoptischen Registrierung (Senken des Stempels) wird festgehalten und nach Entwicklung des Films zu der Rekalkifizierungszeit hinzugezählt. Vom Film wird dann die r- und k-Zeit sowie die maximale Amplitude abgelesen.

2. Bestimmung der Thromboplastinzeit (nach Quick (49))

Reagenzien

1. Calcium-Thromboplastin Behring
2. Aqua dest.

Methode

0,1 ml Citratplasma wird in einem Wasserbad bei 37° C inkubiert. Genau nach 30 Sekunden werden 0,2 ml einer im Wasserbad vorgewärmten Calcium-Thromboplastin-Lösung zugesetzt und die Zeit bis zum Eintreten der Gerinnung ermittelt. An einer Eichkurve, die man durch die Bestimmung abgestufter Normalplasmen erhalten hat, wird der Quick-Wert in Prozent abgelesen.

3. Bestimmung der "partiellen Thromboplastinzeit" (PTT) (nach Langdell (31))

Reagenzien

1. Partielles Thromboplastin Reagens Behring
2. 0,025 m CaCl_2 -Lösung
3. Aqua dest.

Methode

In ein im Wasserbad bei 37° C stehendes Röhrchen wird folgender Ansatz pipettiert:

0,2 ml Citratplasma

0,2 ml partielles Thromboplastin Reagens

(Inhalt einer Kapsel in 6 ml aqua dest.)

Nach 2 Minuten werden 0,2 ml der 0,025 m CaCl_2 -Lösung hinzugegeben. Die Zeit von der Zugabe der CaCl_2 -Lösung bis zum Eintreten der Gerinnung wird bestimmt.

4. Bestimmung der Faktor-II, -V und -X-Aktivität (nach Schultze u. Schwick (53,54))

Reagenzien

1. Prothrombin Reagens Behring
2. Faktor-V-Reagens Behring
3. Faktor-X-Reagens Behring
4. Diäthylbarbiturat-Acetate-Puffer pH 7,6
5. 0,025 m CaCl_2 -Lösung

Methode

Das Citratplasma wird für die Faktor-II und -X-Bestimmung 1:20 und für die Faktor-V-Bestimmung 1:40 mit Diäthylbarbiturat-Acetate-Puffer verdünnt. In ein im Wasserbad bei 37° C stehendes Röhrchen werden 0,1 ml der betreffenden Plasmaverdünnung und 0,1 ml des entsprechenden Reagens pipettiert. Nach 30 Sekunden werden von der 0,025 m CaCl_2 -Lösung 0,2 ml hinzugefügt. Die Zeit von der Zugabe

der CaCl_2 -Lösung bis zum Eintreten der Gerinnung wird bestimmt. Die ermittelte Gerinnungszeit wird an einer Eichkurve, die man durch Bestimmung abgestufter Normalplasmamengen erhalten hat, in Prozent des bestimmten Faktors abgelesen.

5. Bestimmung der Faktor-VIII-Aktivität

(nach Hardisy (21))

Reagenzien

1. Partielles Thromboplastin Reagens Behring
2. Hämophilie-A-Plasma als Mangelplasma
3. 0,025 m CaCl_2 -Lösung
4. Diäthylbarbiturat-Acetat-Puffer pH 7,6
5. Physiologische Kochsalz-Lösung
Aqua dest.

Methode

In ein im Wasserbad bei 37°C stehendes Röhrchen wird folgender Ansatz pipettiert:

- 0,1 ml Hämophilie-A-Mangelplasma, 1:2 mit
Diäthylbarbiturat-Acetat-Puffer verdünnt.
0,1 ml partielles Thromboplastin (Inhalt einer
Kapsel in 6 ml aqua dest.)

0,1 ml Citratplasma, 1:5 mit physiologischer Kochsalz-Lösung verdünnt.

Der Ansatz wird 2 Minuten im Wasserbad inkubiert und nach Zusatz von 0,1 ml CaCl_2 wird die Gerinnungszeit bestimmt.

Die Faktor-VIII-Aktivität wird an einer Eichkurve, die man durch Bestimmung abgestufter Normalplasmamengen erhalten hat, in Prozent abgelesen.

6. Bestimmung der Thrombinzeit (nach Jürgens (29))

Reagenzien

1. Test-Thrombin Behring 60 NIH-Einheiten/ml
Aqua dest.
2. Aqua dest.
3. Physiologische Kochsalz-Lösung

Methode

0,2 ml des mit physiologischer Kochsalz-Lösung 1:2 verdünntem Citratplasma werden 30 Sekunden bei 37°C im Wasserbad inkubiert. Nach Zusatz von 0,1 ml einer frisch angesetzten Thrombin-

Lösung wird die Gerinnungszeit bestimmt.

7. Fibrinogenbestimmung (nach Astrup (2))

Reagenzien

1. 0,025 m CaCl_2 -Lösung
2. Test-Thrombin Behring, 20 NIH-Einheit/ml
phys. NaCl-Lösung
3. 20 % $\text{Na}_2 \text{CO}_3$ - Lösung
4. 10 % NaOH-Lösung
5. Folin Reagens
6. Physiologische Kochsalz-Lösung
7. Aqua dest.

Methode

Das Fibrinogen wird mit folgendem Ansatz zur Gerinnung gebracht:

- 8,5 ml phys. NaCl-Lösung
0,5 ml Citratplasma
0,5 ml CaCl_2 -Lösung
0,5 ml Thrombinlösung, 20 NIH-Einheiten/ml
phys. NaCl-Lösung

Das entstehende Gerinnsel wird 20 Minuten bei 37°C im Wasserbad inkubiert. Danach wird das Gerinnsel mit einem aufgerauhten Glasstab aus

dem Röhrchen gedreht und auf Filterpapier ausgepresst. Anschliessend wird das Gerinnsel mehrmals in aqua dest. gewaschen und dann in 1,0 ml 10% NaOH-Lösung gebracht und 20 Minuten im kochendem Wasseroad erhitzt. Als Leerwert dient ein Röhrchen mit 1,0 ml 10% NaOH-Lösung das ebenfalls im Wasseroad 20 Minuten kochen muss.

Nachdem sich die Röhrchen nach dem Kochen abgekühlt haben, werden pro Ansatz, einschliesslich Leerwert

7,0 ml Aqua dest.

3,0 ml Na_2CO_3 -Lösung

1,0 ml Folin Reagens

zugesezt und 15 Minuten bis zur vollen Faruentwicklung stehengelassen. Dann wird im Photometer (Eppendorf) bei 500 nm die Absorption der Lösung gegen den Leerwert gemessen. Der Fibrinogengehalt wird auf einer vorher mittels L-Tyrosin aufgestellten Eichkurve abgelesen.

8. Quantitative FSF-Bestimmung (nach Heene (23))

Reagenzien

1. Physiologische Kochsalz-Lösung
(mit Imidazolpuffer auf pH 7,4 eingestellt)
2. Imidazolpuffer (17,5 g/l 0,1 n HCl, mit
10 % NaOH auf pH 7,4 eingestellt)
3. 0,05 m Cystein-Lösung (frisch angesetzt)
4. Test Thrombin Behring, 10 NIH-Einheiten/ml
0,025 m CaCl_2 -Lösung
5. 1,9 % Monochloressigsäure (MCES)
6. 0,25 g% Fibrinogen-Lösung (FSF-frei)

Methode

Das Citratplasma wird mit physiologischer Kochsalz-Lösung in steigenden Konzentrationen zwischen 1:100 und 1:1600 verdünnt. Für jede hergestellte Plasmaverdünnung wird folgender Ansatz vorbereitet:

- 0,2 ml physiologische Kochsalz-Lösung
- 0,2 ml 0,05 m Cystein-Lösung
- 0,2 ml 0,25 g% Fibrinogen-Lösung (FSF-frei)
- 0,2 ml der jeweiligen Plasmaverdünnung

Beim Leerwert wird für die Plasmaverdünnung physiologische Kochsalz-Lösung zugesetzt. Die

Ansätze werden gut durchmischt und mit 0,2 ml Thrombinlösung zur Gerinnung gebracht. Die Röhrchen werden 1 Stunde bei 37° C im Wasserbad inkubiert. Danach wird das Gerinnsel von der Wand durch leichtes Schütteln gelöst, 2 ml MCES zugesetzt und auf seine Löslichkeit geprüft. Die Plasmaverdünnung, die nach einer Minute nach Zusatz der MCES gerade noch ein unlösliches oder partiell lösliches Gerinnsel ergibt, wird als relatives Maß der FSF-Aktivität angesehen und der Wert des Verdünnungsgrades in Einheiten/ml angegeben.

9. Bestimmung des qualitativen Äthanol-Tests
(nach Godal (17))

Reagenzien

1. 50 % Alkohol (in Aqua dest.)

Methode

In ein Röhrchen werden 0,7 ml Citratplasma und 0,15 ml 50 % Alkohol pipettiert. Das Röhrchen wird an einem erschütterungsfreiem Ort mindestens 60 Minuten stehengelassen und alle

10 Minuten, ohne zu schütteln, auf das Vorhandensein eines Gerinnsels geprüft. Nach der Geschwindigkeit, mit der sich ein Gerinnsel bildet, wird der Test als stark positiv (+++), positiv (++) und schwach positiv (+) angegeben.

10. Bestimmung des quantitativen Äthanol-Tests

(25)

Reagenzien

1. 5,0 m Harnstoff-Lösung
2. 0,5 % Natriumdodecylsulfat-Lösung
3. Aqua dest.

Methode

Mit einem Glasstab wird das Parakoagulum aus dem Äthanol-gelierten Plasma (s.o.) entfernt. Das Parakoagulum wird dann 3mal in 5,0 ml Aqua dest. gewaschen und anschließend in 5,0 ml Harnstoff-Natriumdodecylsulfat-Lösung gelöst. Die quantitative Bestimmung erfolgte durch Messung der Proteinkonzentration bei 280 nm im Spektralphotometer (Zeiss PM4) als Fibrino-

genäquivalent. Als Leerwert dient Harnstoff-Natriumdodecylsulfat-Lösung.

11. Protaminsulfat-Test (nach Lipinski (40))

Reagenzien

1. 1 % Protaminsulfat-Lösung
2. Physiologische Kochsalz-Lösung
3. Nicht-heparinisierte Hämatokrit-Röhrchen

Methode

1,0 ml Citratblut werden mit 0,1 ml der 1%igen Protaminsulfat-Lösung versetzt und 10 Minuten bei 37° C inkubiert. In Doppelbestimmungen wird diese Blutprobe in nicht-heparinisierte Hämatokrit-Röhrchen gefüllt und in der Hämatokritzentrifuge 5 Minuten zentrifugiert. Das über dem Zellsediment befindliche Präzipitat wird in Prozent der Gesamtlänge angegeben. Als Leerwert dient eine Blutprobe, die nur mit physiologischer Kochsalz-Lösung beschickt wurde.

12. Bestimmung der Euglobulin-Lyse-Zeit

(nach Milstone (44))

Reagenzien

1. 1 % Essigsäure-Lösung
2. Michaelis-Puffer pH 7,3
3. Topostasin Roche (3000 E Thrombin werden
4. Glycerin mit 7,5 ml Glycerin und
5. Aqua dest. 7,5 ml Aqua dest. ver-
setzt; von dieser Lösung
werden 0,25 ml mit 1,75 ml
Aqua dest. verdünnt, um
eine Thrombinlösung von
2,5 E/ml zu bekommen.)

Methode

In ein Röhrchen werden 0,5 ml Citratplasma,
7,5 ml Aqua dest. und 0,13 ml 1% Essigsäure
pipettiert. Der Ansatz wird eine Minute
stehengelassen und dann 10 Minuten bei 2000 g/min
zentrifugiert. Anschließend wird der Überstand
abgegossen und auf den Bodensatz werden 0,9 ml
Michaelis-Puffer und 0,1 ml Thrombin-Lösung
(2,5 E/ml) hinzugefügt. Dieser Ansatz wird zu
einer homogenen Lösung aufgerührt und in ein

Wasserbad bei 37° C inkubiert. Das Gerinnsel soll sich unter 3 1/2 Stunden nicht auflösen.

13. Hämatokrit-Bestimmung (nach Strumia (59))

Ein heparinisiertes Kapillarröhrchen wird zu etwa 3/4 mit Blut gefüllt und das blutfreie Ende wird an einem Bunsenbrenner zugeschmolzen. Anschließend wird das Röhrchen für 5 bis 10 Minuten bei 8000 U/min zentrifugiert und der Hämatokritwert an dem Ablesegerät ermittelt.

Alle Versuchstiere verstarben zwischen dem 5. und 11. Tag post infectionem entweder spontan oder wurden in der Agonie (bei Absinken der Körpertemperatur unter 38° C) mit Narcoren i.v. getötet. Von den unbehandelten Tieren verstarben 7 Tiere spontan, die anderen 8 Tiere mußten in der Agonie getötet werden. Von den behandelten Tieren wurde ein Tier (VS 12) in der Agonie getötet, die anderen Tiere verstarben spontan. Die Sektion der Tiere erfolgte innerhalb 3-12 Stunden post mortem. Die Lebensdauer der unbehandelten Ver-

suchstiere ist in Tabelle 1 wiedergegeben.

T a b e l l e 1

Lebensdauer post infectionem der unbehandelten Versuchstiere

VERSUCHSTIER NR.	ANZAHL DER TIERE	LEBENSDAUER P.I. (in Tagen)
8, 24, 26*	3	5
23	1	7
6	1	8
5*, 7, 9*, 15 16, 25*, 27	7	9
10*, 14*	2	10
13*	1	11

* = getötet

Für 12 unbehandelte Versuchstiere mit einem annähernd gleich langen Krankheitsverlauf von 9 ± 2 Tagen post infectionem (ausgenommen VS 8, 24, 26) erfolgte die Berechnung des Mittelwertes und die Standardabweichung für jeden einzelnen Verlaufstag (Tabelle 3 - 16).

Die einzelnen Werte der anderen 3 Versuchstiere (VS 8, 24, 26), die eine Überlebenszeit p.i. von nur 5 Tagen hatten, sind der Vollständigkeit halber in den Tabellen mit aufgeführt. Die Ergebnisse für die 12 Versuchstiere mit annähernd gleicher Überlebenszeit sind in Abbildung 1 - 10 in Form von Mittelwertsverlaufskurven wiedergegeben. Bei der Faktor VII- und X-Bestimmung sind nur 3 Tiere im Kollektiv mit einer Überlebenszeit von 9 ± 2 Tagen p.i.; wegen der geringen Zahl ($n = 3$) wurden keine Mittelwertsverlaufskurven angefertigt. Um eine bessere Übersicht zu haben, sind für diese Faktoren allerdings Mittelwerte angegeben.

Bei den Therapieversuchen mit Heparin und EACA wurden jeweils nur 2 Versuchstiere genommen. Die Einzelwerte dieser Ergebnisse sind in Tabelle 16 wieder-

gegeben. In Tabelle 2 werden die Gerinnungsanalysen der behandelten Tiere vom letzten Tag mit den entsprechenden Mittelwerten des 9. Tages p.i. der unbehandelten Tiere verglichen.

ERGEBNISSE

Die klinischen Symptome und pathologisch-anatomischen Befunde entsprachen weitgehend den typischen Veränderungen der klassischen Schweinepest (16,52). Eine ausführliche Beschreibung des klinischen Verlaufs ist der Arbeit von Euler zu entnehmen (11). Hier soll nur auf die gerinnungsanalytischen Befunde und Therapieversuche mit Heparin und Epsilonaminocaprinsäure eingegangen werden.

Im Vordergrund der Gerinnungsveränderungen stand die Thrombozytenverminderung. Wie aus Abbildung 1 hervorgeht, bestand schon am zweiten Tag nach der Infektion eine deutliche Abnahme der Thrombozytenzahl. Im weiteren Verlauf der Erkrankung war eine kontinuierliche Verminderung der Thrombozytenwerte zu sehen; die meisten Tiere hatten nach dem 6. Tag p.i. nur noch Thrombozytenwerte um $10.000/\text{mm}^3$. Kurz vor dem Tod war die Thrombozytenzahl bei fast allen Tieren unter $1.000/\text{mm}^3$ abgefallen.

Am Thrombelastogramm konnten auch deutliche Veränderungen im Verlauf der Erkrankung registriert werden. Bei 4 von den 15 unbehandelten Versuchstieren war das Thrombelastogramm am letzten bzw. vorletzten Versuchstag ungerinnbar ($r = \infty$). Bei diesen 4 Tieren wurde dieser Wert in der Auswertung der Thrombelastogramme nicht berücksichtigt. Im Verlauf des Versuches war eine deutliche Verlängerung der r- und k-Zeit zu sehen; wegen der hohen Standardabweichung wurde hier keine Verlaufskurve angefertigt. (Tab. 3) Die maximale Amplitude zeigte eine kontinuierliche Verschmälerung im Verlauf der Erkrankung (Abb. 2). Im Vergleich zum Ausgangswert war die maximale Amplitude am Ende des Versuches mit einem Mittelwert von 25,5 mm deutlich schmaler.

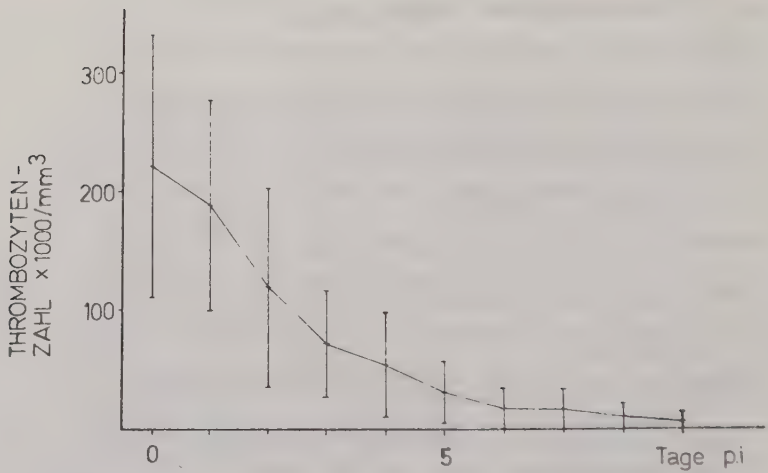


Abb. 1. Mittelwertverlaufskurven für die Thrombozytenzahl. Mindestzahl der zu dem jeweiligen Zeitpunkt untersuchten Tiere $n = 6$.

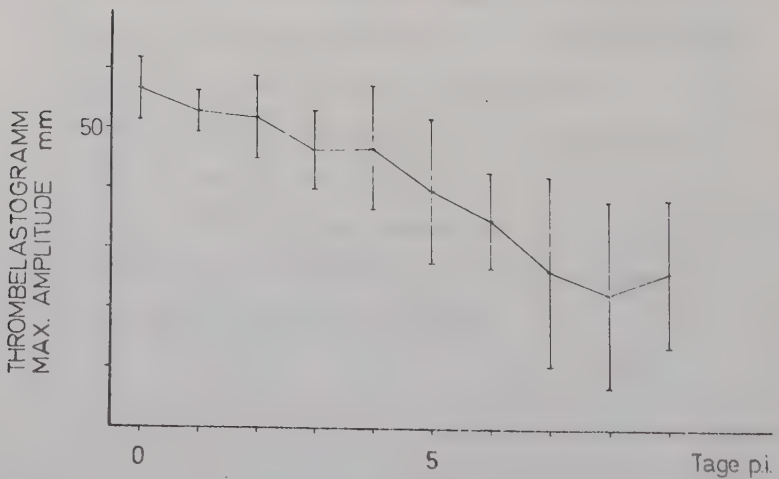


Abb. 2. Mittelwertverlaufskurven für die maximale Amplitude des Thrombelastogramms. Mindestzahl der zu dem jeweiligen Zeitpunkt untersuchten Tiere $n = 6$.

Die Thromboplastinzeit nahm im Verlauf des Versuches progredient zu; ein Mittelwert von 25,5 % wurde am 9. Tag p.i. registriert (Abb. 3). Für die partielle Thromboplastinzeit lag der Endwert zwar höher als der Ausgangswert, aber die starken Schwankungen der Einzelwerte in den letzten 4 Tagen des Versuches vermindern die Aussagekraft dieses Tests (Abb. 4). Die Faktoren II, V, und X erlitten einen Aktivitätsverlust im Verlauf des Versuches (Abb. 5; Tab. 10, 11). Die Aktivität des Faktor V blieb währenddessen über die gesamte Versuchsdauer fast konstant, nur präfinal trat ein geringer Aktivitätsverlust auf (Abb. 6).

Die Fibrinogenkonzentration zeigte bis zum 6. Tag p.i. keine wesentlichen Veränderungen. Danach wurde aber, im Gegensatz zu den anderen untersuchten Gerinnungsfaktoren, ein Anstieg der Fibrinogenkonzentration bis auf einen Mittelwert von 556.4 mg% zum Ende des Versuches verzeichnet (Abb. 7). Interessanterweise wird der Äthanoltest um den 6. Tag p.i. positiv. Quantitativ zeigt der Äthanoltest eine stetige Zunahme des ausfällbaren Proteinanteils nach diesem

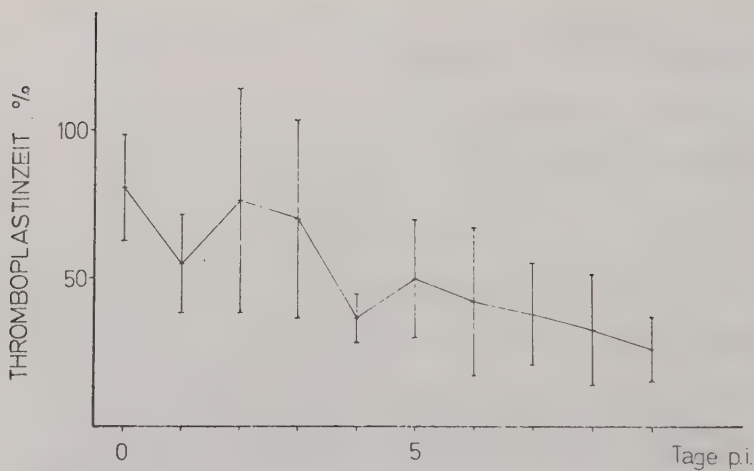


Abb. 3. Mittelwertverlaufskurven für die Thromboplastinzeit. Mindestzahl der zu dem jeweiligen Zeitpunkt untersuchten Tiere $n = 7$.

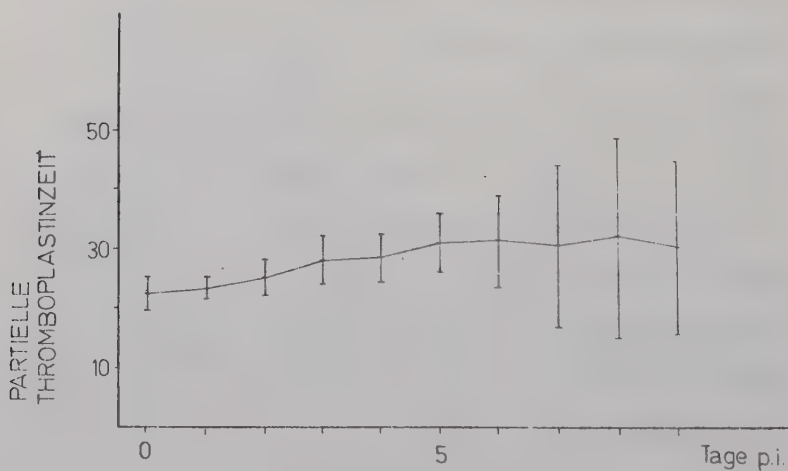


Abb. 4. Mittelwertverlaufskurven für die partielle Thromboplastinzeit. Mindestzahl der zu dem jeweiligen Zeitpunkt untersuchten Tiere $n = 7$.

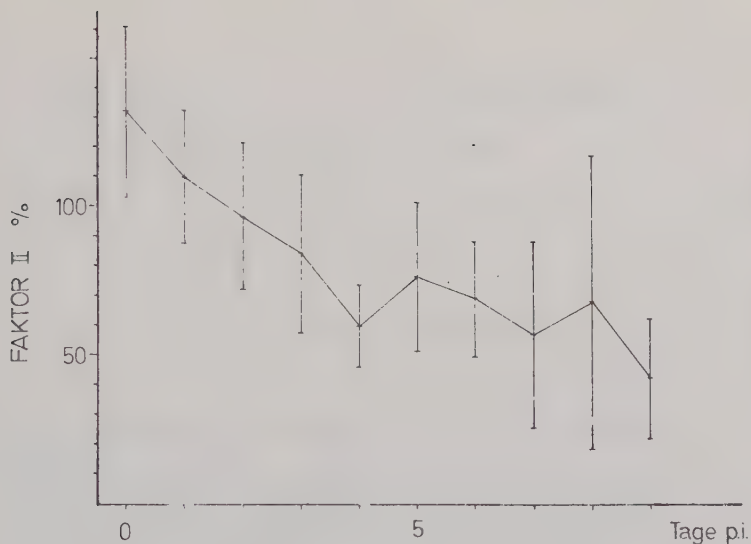


Abb. 5. Mittelwertverlaufskurven für den Faktor II. Mindestzahl der zu dem jeweiligen Zeitpunkt untersuchten Tiere $n = 7$.

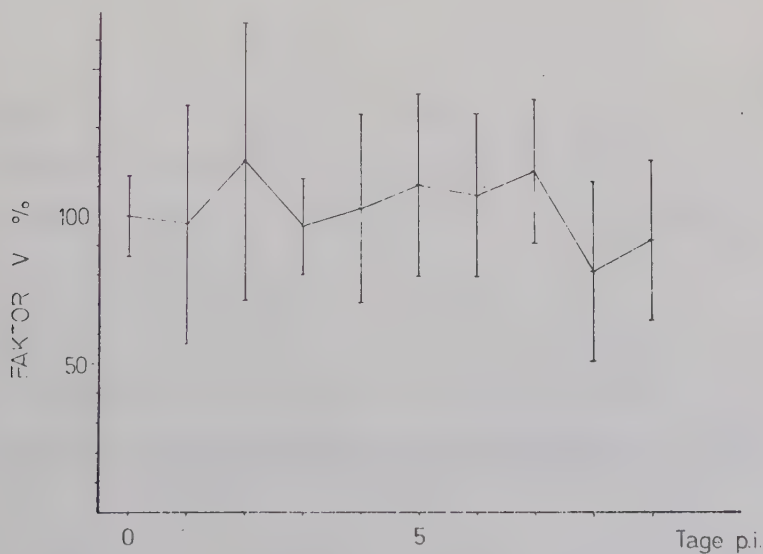


Abb. 6. Mittelwertverlaufskurven für den Faktor V. Mindestzahl der zu dem jeweiligen Zeitpunkt untersuchten Tiere $n = 7$.

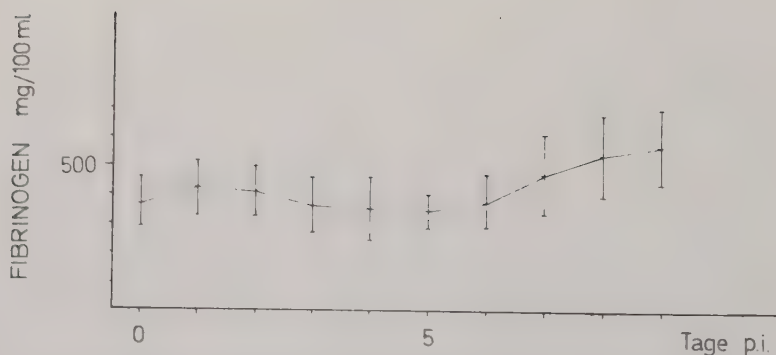


Abb. 7. Mittelwertverlaufskurven für Fibrinogen. Mindestzahl der zu dem jeweiligen Zeitpunkt untersuchten Tiere $n = 7$.



Abb. 8. Mittelwertverlaufskurven für die Faktor-XIII-Aktivität. Mindestzahl der zu dem jeweiligen Zeitpunkt untersuchten Tiere $n = 4$.

Zeitpunkt (Abb. 9). Auch mit dem Protaminsulfat-Test konnten ähnliche Ergebnisse bestimmt werden. Hier waren Proteine schon am 4. postinfektiösen Tag mittels Protaminsulfat präzipitierbar (Tab. 15).

Meist war einige Tage nach der Infektion ein Aktivitätsverlust des Fibrin-stabilisierenden-Faktors (FSF) zu sehen. Die Aktivität des FSF zeigte eine ständige Abnahme, von einem Ausgangswert von 800 E/ml bis auf durchschnittlich 171.4 E/ml am Ende des Versuches (Abb. 8).

Das Thrombelastogramm, die Euglobulin-Lyse-Zeit und die Thrombinzeit wurden bestimmt, um Auskunft über das fibrinolytische System zu erhalten. Außer den obenerwähnten Veränderungen im Thrombelastogramm waren keine zusätzlichen Veränderungen, die auf eine Fibrinolyse deuteten, zu sehen. Bei den Untersuchungen der Euglobulin-Lyse-Zeit wurde in keiner Probe eine Lysiszeit von unter 2 Stunden festgestellt. Die Thrombinzeit zeigte nach der Infektion eine progrediente Verlängerung. Um den 4. Tag nach der Infektion wurde bei fast allen Tieren eine Thrombinzeit von

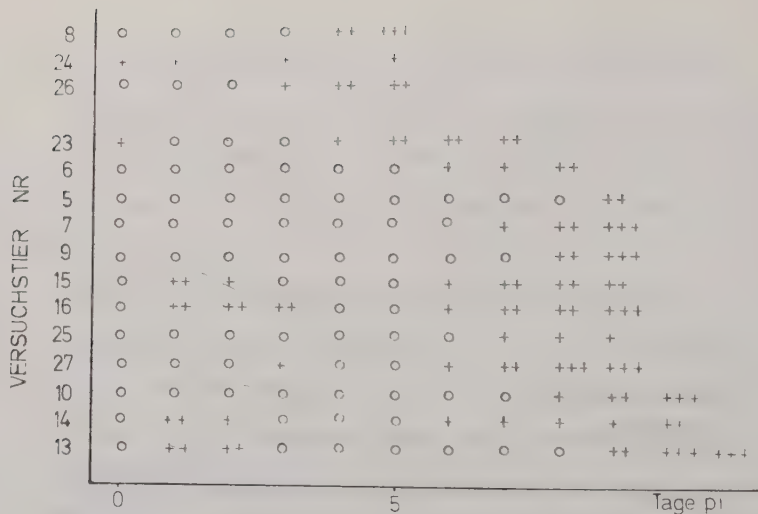


Abb. 9a. Ergebnisse des qualitativen Athanoltestes.

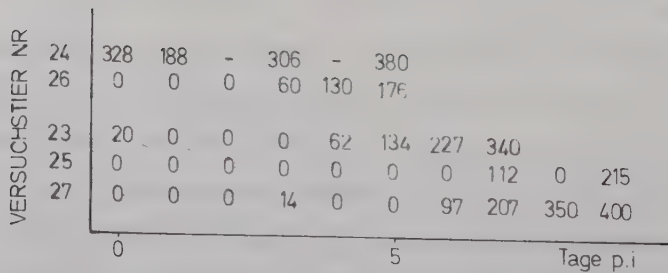


Abb. 9b. Ergebnisse des quantitativen Athanoltestes. Angaben in mg Fibrinogen/100 ml.

über 2 Minuten registriert, zum Teil bildeten sich überhaupt keine Gerinnsel mehr aus (Tab. 14).

Der Hämatokritwert fiel im Verlauf des Versuches von 41 % am Tag der Infektion auf 15,7 % am Ende des Versuches (Abb. 10).

Behandlungsversuche mit Heparin und EACA:

Um die Auswirkung von Heparin und EACA auf den Krankheitsverlauf zu beurteilen, wurden jeweils 2 Tiere mit Heparin oder EACA behandelt. Die Gerinnungsanalysen und Ergebnisse dieser beiden Untersuchungen sind denen der unbehandelten Tiere in Tab. 2 gegenübergestellt. Klinisch zeigte sich weder eine Besserung noch eine Verschlechterung gegenüber den unbehandelten Tieren.

Histologie:

In den histologischen Untersuchungen wurde besonders auf das Vorkommen von Thromben geachtet. In den Gefäßen der Nieren, Milz, Lunge, Leber und des Darmes fanden sich Mikrothromben bei fast

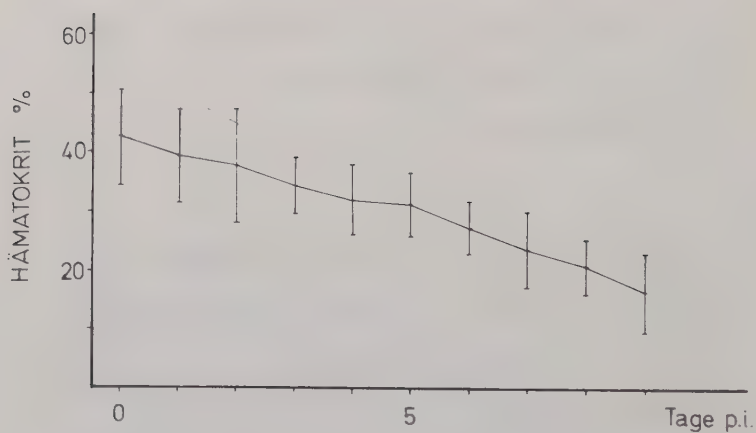


Abb. 10. Mittelwertverlaufskurve des Hämatokritwertes.
Mindestzahl der zu dem jeweiligen Zeitpunkt untersuchten
Tiere $n = 3$.

allen Tieren (30). Andere Organe wurden dagegen nur bei etwa 50 % der Tiere thrombotisch befallen. Die Thromben waren vornehmlich in den kleinen und mittleren Arterien und Venen abgelagert.

T a b e l l e 2

Ergebnisse des letzten Versuchstages bei den
unbehandelten und behandelten Tieren:

PARAMETER	UNBEHANDELT		HFPARINBEHANDELT		EACA-BEHANDELT	
	n	MW	VS	x	VS	x
Thrombozyten- zahl/mm ³	10	2.800	11 12	<1.000 <1.000	20 21	<1.000 <1.000
TEG: m _e (mm)	8	25.5	11 12	12.0 38.0	20 21	0.0 51.0
Thromboplastin- zeit (%)	10	25.5	11 12	(25.0)* 35.5	20 21	19.0 30.0
Partielle Thromboplastin- zeit (sec)	10	29.9	11 12	19.0 19.8	20 21	40.1 28.0
Faktor II (%)	10	42.4	11 12	54.0 90.0	20 21	37.0 74.0
Faktor V (%)	10	91.9	11 12	132.0 120.0	20 21	132.0 112.0
Faktor XIII (E/ml)	7	171.4	11 12	200.0 200.0	20 21	- -
Fibrinogen (mg%)	9	556.4	11 12	568.0 508.0	20 21	540.0 540.0
Äthanoltest (qualitativ)	10	++/+++	11 12	+++ ++	20 21	+++ ++
Hämatokrit (%)	7	15.7	11 12	14.0 25.0	20 21	39.0 25.0

* Wert für den Vorletzten Tag.

DISKUSSION

Die vorgenommenen Untersuchungen zeigen Störungen im Gerinnungssystem, wie man sie auch bei einigen Viruserkrankungen des Menschen antrifft. In der Endphase der akuten Schweinepest kommt es zu einer massiven hämorrhagischen Diathese. Es sind multiple Defekte im Hämostasesystem zu beobachten; sowohl die globalen Gerinnungsanalysen, als auch die Tests zur Bestimmung der Einzelgerinnungsfaktoren ergeben pathologische Befunde. Neben dieser ausgeprägten Blutungsneigung können auch Thromben in verschiedenen Organen nachgewiesen werden, insbesondere sind Mikrothromben in Niere, Lunge, Milz, Leber und Darm zu sehen. Dieser generalisierte Zusammenbruch des hämostatischen Potentials und das Auftreten von Mikrothromben in der Endstrombahn deuten im wesentlichen auf das Vorliegen einer Verbrauchskoagulopathie in der Endphase der Erkrankung hin (25).

Als erstes Zeichen dieser Gerinnungsveränderungen ist eine Verminderung der Thrombozytenzahl zu sehen.

Schon am 1. bis 2. Tag nach der Infektion ist ein deutlicher Abfall der Thrombozytenwerte zu sehen, der sich im Verlauf der Erkrankung noch stärker ausprägt. Die Aktivität der Gerinnungsfaktoren II, VIII und X fallen erst nach dem 3. bzw. 4 Tag auf deutlich verminderte Werte. Dagegen ist die Faktor-V-Aktivität über einen weit längeren Zeitraum konstant und zeigt erst präfinal einen geringen Aktivitätsverlust. Die globalen Gerinnungstests stehen mit diesen Einzelaktivitätsbestimmungen in Einklang. So liegt die Thromboplastinzeit ab 4. Tag unter 50 %; die partielle Thromboplastinzeit ist nach diesem Zeitpunkt ebenfalls verlängert. Auch im Thrombelastogramm ist ab dem 4. Tag eine deutliche Verlängerung der r-Zeit zu sehen.

Die ausgeprägte Thrombozytenverminderung in den ersten Tagen nach der Infektion und die erst relativ später eintretenden Veränderungen der Gerinnungsfaktoren lassen unterschiedliche Ursachen in der Entstehung dieser Defekte vermuten. Durch den frühen Thrombozytenabfall mit geringen Veränderungen der Gerinnungsfaktoren erscheint es fraglich, daß der Thrombozytenabfall durch eine

disseminierte intravasale Gerinnung verursacht wird. Eher ist an eine direkte Schädigung der Thrombozyten und der Thrombozytopoese durch das Virus zu denken. Derzeit laufende Untersuchungen scheinen diese Annahme zu bestätigen (26).

Weiterhin schließt der späte Aktivitätsverlust des Faktor V, der als ein besonders sensibler Indikator für intravasale Thrombinaktivität und damit einer Verbrauchskoagulopathie angesehen wird, eine intravasale Gerinnung in der frühen Krankheitsphase aus.

Die Abnahme der Aktivität der Faktoren II und X, die beide in der Leber gebildet werden und Vitamin-K-abhängig sind, ohne eine Verminderung der Faktor-V-Aktivität, spricht für einen Vitamin-K-Mangel ohne wesentlichen Leberzellschaden. Ein Vitamin-K-Mangel könnte durch die für die akute Schweinepest symptomatischen hämorrhagischen Diarrhoen und durch eine direkte Schädigung der Darmschleimhaut durch das Virus eintreten. Der präfinale Aktivitätsverlust des Faktor-V und die andauernde Aktivitätsverminderung der Faktoren II und X lassen einen intravasalen

Gerinnungsprozess gegen Ende der Erkrankung vermuten, schließen jedoch die Möglichkeit einer Leberschädigung nicht aus (11)*.

Die globalen Gerinnungstests zeigen ebenfalls eine Störung in der ersten Phase der Gerinnung nach dem 4. post infektiösen Tag. So kann die Verlängerung der Thromboplastinzeit durch den obenerwähnten Aktivitätsverlust der Faktoren II und X erklärt werden, jedoch muß an eine mögliche Beeinflussung durch Antithrombine gedacht werden. Antithrombine sind zu dieser Zeit sicherlich vorhanden, da die Thrombin-Zeit nach dem 3.-4. Tag p.i. immer stark verlängert ist und kein Anhaltspunkt für eine gesteigerte Fibrinolyse vorliegt. Die Ursache der Verlängerung der Thrombin-Zeit ist wahrscheinlich das Auftreten von Fibrinmonomer-Fibrinogen-Komplexen, die auch am 4. Tag p.i. mit dem Protamin-Sulfat-Test und dem Äthanol-Test nachgewiesen werden.

Im Thrombelastogramm ist besonders die Verschmälerung der maximalen Breite zu beachten. Hauptsächlich ist die Einschränkung der maximalen Breite auf die Throm-

*Veränderungen der Gerinnungsfaktoren werden ausführlich in der Arbeit von Euler diskutiert.

bozytopenie zurückzuführen. Jedoch sind hier noch die Fibrinogenkonzentration, Fibrinogen-Fibrin-Spaltprodukte und das FSF-Potential zu berücksichtigen. Die Fibrinogenkonzentration scheint in der Verschmälerung der maximalen Breite keine entscheidende Rolle zu spielen, da die Fibrinogenkonzentration zum Ende des Versuches über dem Ausgangswert liegt. Diesem Anstieg der Fibrinogenkonzentration liegt wahrscheinlich eine andere Ursache zugrunde. Denn mit dem Anstieg der Fibrinogenkonzentration ist auch ein Anstieg des Äthanolgelierbaren-Fibrinogenanteils und einer Vermehrung des Protaminsulfat-präzipitierbaren Proteins zu sehen.

Der Äthanoltest und Protaminsulfat-Test gelten als empfindliche Nachweismethode für zirkulierende Fibrinmonomer-Fibrinogen-Komplexe, die infolge intravasaler Thrombineinwirkung entstehen. Da diese Fibrinmonomer-Fibrinogen-Komplexe jedoch auch bei der Fibrinogenbestimmung miterfaßt werden, ist der Fibrinogenwert um den 6. Tag p.i. entsprechend dem Äthanolgelierbaren Fibrinogen-Anteil zu hoch (7).

Bei der quantitativen Bestimmung des Äthanoltests ist ein Anstieg bis auf über 300 mg Fibrinogen/100 ml zu verzeichnen; dies würde dann eine entsprechende Verminderung der Fibrinogenkonzentration bedeuten und somit im Endeffekt eine Abnahme der präfinalen Fibrinogenkonzentration. Daher ist wahrscheinlich auch die Fibrinogenkonzentration und das Auftreten von Fibrinmonomer-Fibrinogen-Komplexen ein wichtiger Faktor in der Verschmälerung der maximalen Breite. Schließlich könnte auch die Verminderung der Faktor-XIII-Aktivität zu der Verschmälerung der maximalen Breite beitragen.

Der qualitative Äthanol-Test ist bei allen Versuchstieren zwischen dem 4. und 6. Tag p.i. positiv. Die Ergebnisse des qualitativen Äthanol-Tests zeigen, daß das Auftreten von Fibrinmonomer-Fibrinogen-Komplexen ein konstantes gerinnungsanalytisches Kriterium in der Endphase der Erkrankung darstellt. Der positive Ausfall des Äthanol-Tests wird als Hinweis für das Vorliegen einer Verbrauchskoagulopathie angesehen (6).

Die Faktor-XIII-Aktivität ist ein empfindlicher Indikator für intravasal freigesetztes Thrombin, da seine Aktivierung direkt durch Thrombin stattfindet. In dieser Hinsicht ist die Verminderung der Faktor-XIII-Aktivität ein wichtiger Hinweis auf das Vorliegen einer Verbrauchskoagulopathie. Während die Faktor-XIII-Aktivität bei einer Verbrauchskoagulopathie mit sekundärer Fibrinolyse-Steigerung vermindert ist, wird die Aktivität nur unwesentlich bei einer primären Fibrinolyse-Steigerung beeinträchtigt (24). Die Abnahme der Faktor-XIII-Aktivität im Verlauf der Schweinepest kann einerseits als weiterer Beweis für das Vorliegen einer Verbrauchskoagulopathie und andererseits zum Ausschluß einer primär gesteigerten Fibrinolyse herangezogen werden.

Fibrinmonomer-Fibrinogen- und Fibrinmonomer-Spaltprodukt-Komplexe sind bei einer disseminierten intravasalen Gerinnung und einer gesteigerten Fibrinolyse vorhanden. Daß es sich bei den Gerinnungsänderungen während der Schweinepest nicht um eine abnorme Fibrinolyse handelt, kann durch mehrere Befunde

ausgeschlossen werden. Im Thrombelastogramm ist keine sekundäre Verschmälerung (Spindelform), wie sie bei einer gesteigerten Fibrinolyse zu sehen ist, festzustellen. Weiterhin ist in keiner Probe eine Verkürzung der Euglobulin-Lyse-Zeit festzustellen. Die Zeit bis zur beginnenden Lyse gilt als Maß für das fibrinolytische Aktivator-Potential. Eine stark verlängerte Thrombinzeit kann auch ein Hinweis für eine vermehrte Fibrinolyse sein. In diesem Zusammenhang kann aber die Thrombinzeit nicht sicher beurteilt werden, da wahrscheinlich mehrere Antithrombine für die Verlängerung der Thrombinzeit verantwortlich sind. Wie schon erwähnt, wird die Faktor-XIII-Aktivität nur unwesentlich bei einer primär gesteigerten Fibrinolyse beeinflusst, während in diesem Versuch eine starke Verminderung der Faktor-XIII-Aktivität vorliegt.

Außerdem wurden zwei Tiere mit EACA behandelt, um den therapeutischen Effekt auf das Gerinnungssystem zu beobachten. Durch EACA wird die Fibrinolyse gehemmt, was die Persistenz von Fibrin fördert.

Bei diesem Versuch war keine Verschlechterung des Krankheitsverlaufes festzustellen. Die Gerinnungsanalysen ergaben kaum Abweichungen von den Befunden der unbehandelten Tiere (Tab. 2). Die Werte der maximalen Amplitude sind unterschiedlich ausgefallen und nicht sicher zu verwerten. Bei einem Tier (VS 20) verschmälerte sich die maximale Amplitude im Verlauf der Erkrankung bis auf 28 mm, das Thrombelastogramm war am Tag des Exitus ungerinnbar. Bei dem anderen Tier (VS 21) blieb die maximale Amplitude fast konstant und hatte einen Wert von 51 mm am Tag des Exitus, im Vergleich zu einem Mittelwert von 25,5 mm am Ende des Versuches bei den unbehandelten Tieren. Alle anderen Bestimmungen verhielten sich im Verlauf des Versuches annähernd so wie bei den unbehandelten Tieren. Diese minimale Beeinflussung des Krankheitsverlaufes durch die EACA-Gabe unterstützt die anderen Befunde, die eine gesteigerte Fibrinolyse ausschlossen:

Da Heparin eine allgemeine intravasculäre Gerinnung verhindert, wurde an zwei Versuchstieren versucht,

die Hämorrhagien mit Heparin zu beeinflussen. Bei diesem Therapieversuch konnte keine eindeutige Besserung des Krankheitsverlaufes festgestellt werden. Die Thrombozytenwerte zeigen bei den Heparinbehandelten Tieren denselben steilen Abfall, wie es bei den unbehandelten Tieren der Fall ist. Die globalen Gerinnungstests sind im wesentlichen nicht verbessert, wenn die starke Streuung der Werte bei der partiellen Thromboplastinzeit berücksichtigt wird. Interessant ist das Verhalten der Faktoren II und V. Die Faktor-II-Aktivität hat bei den unbehandelten und heparinbehandelten Tieren bis zum Ende des Versuches abgenommen, aber liegt bei den heparinbehandelten Tieren deutlich höher als bei den unbehandelten Tieren. Ein präfinaler Aktivitätsverlust des Faktor-V ist bei den unbehandelten Tieren zu sehen, während bei den heparinbehandelten Tieren eine Zunahme der Faktor-V-Aktivität in den letzten Tagen des Versuches zu verzeichnen ist. Die Faktor-V-Aktivität liegt am letzten Versuchstag bei den heparinbehandelten Tieren etwa 25% über dem Ausgangswert; dagegen liegt bei den unbehandelten Tieren ein Aktivitätsverlust von etwa 10% vor. Die anderen durchgeführten Bestimmungen waren kaum durch die Heparinbehandlung beeinflusst, die Werte des letzten Versuchstages lagen im Bereich der Werte der unbehandelten Tiere.

Dass die Heparinbehandlung keinen Einfluss auf die

Thrombozytenverminderung hat, unterstützt die Annahme, daß die Thrombozyten und Thrombozytopoese direkt durch das Virus geschädigt werden. Einen geringen Einfluß scheint die Heparintherapie auf die Gerinnungsfaktoren zu haben. Die Erhaltung einer höheren Faktorenaktivität und Verminderung der Aktivitätsabnahme deuten auf eine Minderung der intravasalen Gerinnung. Ein Vitamin-K-Mangel kann die Ursache der Faktor-II-Aktivitätsminderung sein. Für das Weiterbestehen einer Verbrauchs-koagulopathie spricht nur noch der positive Äthanoltest.

Der nicht eindeutige Erfolg der Heparintherapie kann mehrere Ursachen haben. Zuerst ist an eine zu niedrige Heparindosierung zu denken. Good und Thomas zeigten, daß weniger als 5 mg Heparin/kg Körpergewicht keinen Schutz beim SSP gibt (18). Dann ist an die multiplen Defekte im Gerinnungssystem zu denken, die nicht alle unbedingt durch Heparin beeinflusst werden. So ist der Abfall der Thrombozytenzahl sicherlich durch virale Schädigung

verursacht und nicht durch Heparinverabreichung zu beheben. Schließlich ist bei einem Vitamin-K-Mangel eine Abnahme der Vitamin-K-abhängigen Faktoren auch bei Heparinbehandlung unvermeidbar.

Die vorliegenden Untersuchungen zeigen, daß bei der akuten Schweinepest multiple Defekte des Hämostasesystems auftreten, die sich im Sinne einer Verbrauchskoagulopathie deuten lassen. So weisen besonders die Veränderungen des Gerinnungssystems gegen Ende des Krankheitsverlaufes auf eine Verbrauchskoagulopathie hin. Hier ist der Aktivitätsverlust des Faktor-V und der positive Ausfall des Äthanol-Tests und die Verminderung der Faktor-XIII-Aktivität als Beleg für das Vorliegen einer Verbrauchskoagulopathie anzusehen. Auch der histologische Befund der Mikrothromben in der Endstrombahn vieler Organe kann als beweisend für eine Verbrauchskoagulopathie angesehen werden. Schließlich sei noch der angedeutete Erfolg der Heparintherapie anzuführen.

Eine Verbrauchsreaktion tritt sicherlich nicht nur

gegen Ende der Erkrankung auf, sondern auch schon in den frühen Phasen des Krankheitsverlaufes. Hierfür spricht der positive Ausfall des Protaminsulfat-Tests ab dem 4. Tag p.i. bei allen Versuchstieren. Auch der Äthanol-Test fällt bei einigen Tieren schon am 4. Tag p.i. positiv aus. Die Abnahme der Faktor-XIII-Aktivität von 50 % bis zum 4. Tag p.i. ist ein weiterer Hinweis auf das Vorliegen einer Verbrauchsreaktion. Wird dann die Verlängerung der globalen Gerinnungsanalysen und die Abnahme der Einzelfaktorenaktivität in diesem Zusammenhang betrachtet, kann man eine erhöhte intravasale Gerinnung annehmen.

Der Aktivierungsmechanismus der intravasalen Gerinnung nach Virusinfektionen ist nicht geklärt. Eine Hämolyse, Schädigung der Endothelzellen oder Immunreaktion können eine Verbrauchskoagulopathie bei Viruserkrankungen auslösen (46). Bei der akuten Schweinepest dürfte der Aktivierungsmechanismus der intravasalen Gerinnung in der Freisetzung prokoagulatorischer Substanzen aus virusgeschädigten Zellen, insbesondere Thrombozyten, zu suchen sein. Wird das

retikuloendotheliale System auch durch das Virus geschädigt, oder mit prokoagulatorischen Substanzen überladen, dann wird die Clearance-Funktion unterbunden und die Verbrauchsreaktion manifest.

Durch die während der Krankheit auftretenden Blut- und Flüssigkeitsverluste, ist auch an eine Störung der Mikrozirkulation und Schock zu denken. Durch den entstehenden Schock kann dann eine disseminierte intravasale Gerinnung ausgelöst werden (20).

Die Summe aller Veränderungen, die im Verlauf der akuten Schweinepest an den Gefäßen, den Thrombozyten, den Gerinnungsfaktoren und deren Synthese auftreten, führen schließlich zu der für das Krankheitsbild charakteristischen hämorrhagischen Diathese.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Gerinnungsveränderungen, die im Verlauf der akuten Schweinepest auftreten, wurden an 19 Schweinen untersucht. Während des gesamten Krankheitsverlaufes (5 - 13 Tage) wurden täglich Gerinnungsanalysen durchgeführt. Ein Behandlungsversuch mit Heparin und EACA wurde bei jeweils zwei Tieren unternommen.

Die Gerinnungsanalysen ließen mehrere entscheidende Veränderungen im Gerinnungssystem erkennen. Eine ausgeprägte Thrombozytenverminderung, die bereits am 2. Tag p.i. deutlich war und Werte von unter $10.000/\text{mm}^3$ nach dem 6. Tag p.i. aufwies. Im Thrombelastogramm war eine signifikante Verschmälerung der maximalen Amplitude festzustellen. Der Äthanol-Test und der Protaminsulfat-Test wurden zwischen dem 4. und 6. Tag p.i. positiv, wobei der ausfällbare Proteinanteil bis zum Tod der Tiere weiter anstieg. Die Faktor-XIII-Aktivität war schon am 4. Tag um 50 % vermindert und fiel weiter bis auf 160 E/ml

zum Ende des Versuches.

Die globalen Gerinnungsanalysen zeigten eine deutliche Verlängerung im Verlauf der Erkrankung. So war die Thromboplastinzeit bei 29 % am Tag des Exitus; die partielle Thromboplastinzeit und die r-Zeit waren ebenfalls verlängert. Auch die Einzelfaktorenbestimmungen zeigten Aktivitätsverluste. Die Faktoren II und X hatten einen progredienten Aktivitätsverlust, während der Faktor-V erst präfinal einen Aktivitätsverlust erlitt.

Pathologisch-anatomisch ist das Krankheitsbild durch eine massive hämorrhagische Diathese und dem Auftreten von Mikrothromben in Niere, Lunge, Leber, Milz und Darm gekennzeichnet.

Diese Befunde lassen auf mehrere Ursachen für die Entstehung der Hämorrhagien schließen. Die Thrombozytopenie ist wahrscheinlich auf eine direkte virale Schädigung zurückzuführen. Gegen Ende der Erkrankung treten multiple Gerinnungsdefekte auf, die sich im Sinne einer Verbrauchskoagulopathie

deuten lassen. Zu einem frühen Zeitpunkt der Erkrankung lassen sich auch schon Veränderungen im Gerinnungsmechanismus erkennen. Diese Hämostasedefekte in Verbindung mit den virusbedingten Thrombozytenschädigungen und Endothelläsionen bedingen schließlich die massiven Blutungen in der Terminalphase der Erkrankung.

Tabelle 3

Versuchs- tier n.	1	2	3	4	5	6	7	8	9
3	420	345	330	525	030	720	0030	0	300
24	300	---	300	---	900	400	720	0	300
20	450	420	405	400	570	405	510	2000	0
23	090	420	420	700	1050	720	0030	0	000
0	---	300	435	300	300	400	720	0	040
5	---	315	300	315	315	405	510	0	750
7	330	345	300	435	400	405	300	0	1300
15	450	270	205	330	450	510	700	0	040
10	---	450	720	720	900	1230	990	0	040
10	---	300	040	700	1530	0	360	0	750
25	420	300	435	090	040	720	720	1050	1300
27	450	450	400	495	400	405	---	040	040
10	405	240	310	300	450	420	405	510	---
14	---	330	420	300	300	420	---	---	1000
13	---	345	540	300	420	300	---	330	345
n	12	12	12	12	12	11	8	8	8
MW	457.5	330.2	390.0	490.2	641.2	501.0	616.0	1000.2	850.6
SD	111.4	62.2	60.1	102.5	350.0	239.2	234.0	779.9	400.4

Tabelle 3: Ergebnisse der R-Zeit (sec) für 9 Tage p.i.

Tabelle 4

Versuchstier n.	0	1	2	3	4	5	6	Tage post infectionem			
								7	8	9	
8	270	270	285	330	1010	∞					
24	150	150	---	150	---	1530					
26	150	120	195	180	150	345					
23	180	120	120	150	180	470	690	∞			
6	---	210	195	195	210	180	285	720	∞		
5	---	220	170	150	220	150	195	165	240	300	
7	180	195	195	225	240	510	∞	∞	∞	∞	
9	210	195	240	165	240	570	1200	∞	∞	∞	
15	---	270	270	520	480	810	990	2290	∞	∞	
16	---	---	210	270	240	900	---	2890	∞	390	
25	105	120	120	165	240	225	480	1020	2880	4500	
27	180	150	150	150	180	255	330	185	840	480	
10	255	210	195	195	270	420	1900	∞	∞	---	
14	---	180	150	240	120	270	270	---	---	∞	
13	---	210	180	210	120	300	210	---	180	190	

Tabelle 4: Ergebnisse der K-Zeit (sec) für 9 Tage p.i.

Tabelle 5

Versuchs- tier Nr.	Tage post infectionem									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
3	50	36	33	34	--	12				
24	55	50	--	51	45	37				
20	55	53	40	51		46				
23	04	54	56	50	52	56	41	5		
6	--	50	52	43	46	42	36	30	--	40
5	--	52	52	--	48	46	42	53	44	
7	54	50	46	44	--	--	18	10	5	
9	56	50	40	40	23	24	30	14	--	12
15	--	50	48	36	38	26	20	24	10	18
10	--	53	54	40	38	20	--	26	13	20
25	03	55	40	53	55	57	47	44	12	24
27	53	50	49	52	51	55	30	35	36	33
10	50	40	50	44	34	30	25	12	7	
14	--	--	68	44	60	34	34	--	--	6
15	--	54	60	40	62	36	40	--	44	40
n	6	11	12	11	11	11	11	10	8	8
M	56.0	52.8	51.7	46.1	46.5	46.5	34.2	25.8	22.0	25.5
SD	5.2	3.5	6.3	6.5	10.4	12.0	8.0	15.7	15.5	12.2

Tabelle 5: Ergebnisse der maximalen Thromboelastizität (mm) für 9 Tage p.i.

Tabelle 6

Versuchs- tier Nr.	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
8	48	46	34	37	24	25				
24	200	88	--	58	--	17				
26	52	60	50	32	34	22				
23	58	60	50	37	37	23	20	49	20	24
6	--	46	88	112	48	43	90	42	30	23
5	--	43	120	113	49	55	46	31	24	10
7	100	47	75	50	35	34	35	22	15	32
9	100	46	120	47	34	31	23	67	55	10
15	67	47	45	85	24	55	43	48	45	35
16	--	48	67	45	25	47	25	10	8	9
25	78	78	76	42	29	24	23	21	20	21
27	60	52	40	40	40	29	26	34	23	21
10	110	47	160	75	40	75	34	46	37	39
14	--	100	33	140	--	88	35	62	75	42
13	--	42	38	50	--	75	100			
n	7	12	12	12	10	12	12	12	11	10
MW	80.4	54.6	76.0	69.6	36.1	49.4	41.9	37.6	32.0	25.5
SD	17.9	16.6	38.0	33.5	8.1	19.8	24.9	16.9	18.7	10.7

Tabelle 6: Ergebnisse der Thromboplastinzeit (%; für 9 Tage p.i.

Tabelle 7

Versuchs- tier n.	0	1	2	3	4	5	6	Tage post Infectionen 7 8 9
3	23.6	24.4	24.2	24.0	24.6	22.8		
24	17.5	17.2	--	31.6	--	37.0		
26	27.4	17.6	26.3	32.5	32.4	34.3		
23	16.0	20.2	23.0	32.7	28.3	29.6	32.2	32.2
6	--	26.0	30.6	31.6	29.8	32.0	35.2	32.8
5	--	26.4	30.8	31.6	27.6	30.2	33.2	29.6
7	24.6	23.0	22.8	24.4	26.6	--	20.2	24.6
9	23.5	23.2	23.4	24.6	24.6	--	27.2	28.8
15	23.8	24.8	22.8	23.4	26.6	26.4	20.6	25.0
16	--	20.6	22.0	25.0	26.0	29.8	21.4	20.0
25	23.2	24.1	25.0	33.3	39.0	42.3	32.4	21.6
27	17.5	24.0	28.4	34.2	32.8	35.1	68.5	69.7
10	25.4	24.6	23.2	23.2	23.4	--	33.3	43.0
14	--	21.0	25.0	24.4	26.4	25.2	24.8	22.2
13	--	22.6	23.0	27.0	--	27.0	25.2	24.4
							21.4	22.4
							24.0	24.0
n	7	12	12	12	11	9	12	11
MW	22.4	23.3	25.0	27.9	28.2	30.8	31.1	31.6
SD	2.8	1.9	3.0	4.1	4.1	4.9	7.8	16.7
							13.4	14.5

Tabelle 7: Ergebnisse der partiellen Thromboplastinzeit (sec) für 9 Tage p.i.

Tabelle 8

Versuchs- tier Nr.	Tage post infectionem									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
8	110	76	65	50	44	48				
24	140	145	--	95	--	37				
26	86	112	102	83	73	70				
23	152	103	93	92	79	86	67	41	120	
6	--	--	66	72	72	62	51	51	--	56
5	--	--	80	110	84	84	71	50	--	30
7	155	120	120	120	60	76	--	56	52	8
9	165	100	115	84	43	66	--	20	16	
15	76	70	42	37	48	66	65	61	40	41
16	--	160	100	44	45	55	60	49	56	37
25	130	122	138	90	55	41	37	22	17	19
27	106	89	86	48	48	46	71	59	36	37
10	140	120	110	110	65	130	--	42	44	52
14	--	105	100	98	--	96	96	88	110	80
13	--	110	110	105	--	110	104	145	160	64
n	7	10	12	12	10	12	9	12	10	10
MW	132.0	109.9	96.6	84.1	59.9	76.5	69.1	57.0	68.1	42.4
SD	29.0	22.4	24.6	26.8	13.9	25.1	19.4	31.5	49.4	20.2

Tabelle 8: Ergebnisse der Faktor-II-Aktivität (%) für 9 Tage p.i.

Tabelle 9

Versuchs- tier Nr.	0	1	2	3	4	5	6	Tage post infectionem		
								7	8	9
8	96	120	105	94	86	110				
24	150	161	---	180	---	170				
26	88	115	110	136	180	145				
23	88	90	137	92	115	180	180	134	27	
6	---	45	130	98	140	114	110	135	48	125
5	---	---	130	116	145	125	105	125	82	62
7	92	92	100	100	76	114	100	90	68	74
9	115	120	140	120	86	135	105	78	80	71
15	80	76	70	70	54	84	84	94	86	92
16	---	130	64	72	70	72	80	100	68	93
25	132	114	112	69	61	62	64	66	115	80
27	98	43	125	98	145	136	145	127	90	120
10	105	145	115	120	80	---	105	92	110	120
14	---	66	70	78	---	84	105	105	135	125
15	---	84	96	90	---	82	100	135		
n	7	11	12	12	10	11	12	12	11	10
MW	100.0	97.3	118.9	96.5	102.6	110.5	106.9	115.0	81.0	91.9
SD	13.8	40.5	47.3	16.4	31.9	30.8	27.8	24.4	30.3	27.0

Tabelle 9: Ergebnisse der Faktor-V-Aktivität (%) für 9 Tage p.i.

Tabelle 10

Versuchs- tier Nr.	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
24	105	91	---	63	---	76				
26	118	99	105	55	62	63				
23	92	78	78	63	61	84	92	90	68	93
25	132	114	112	69	61	62	64	66	65	82
27	115	112	70	57	75	85	78	70		
n	3	3	3	3	3	3	3	3		
MW	113.0	101.3	86.6	63.0	65.6	76.0	78.0	75.3		
SD	16.3	16.5	18.2	4.8	6.6	10.0	11.4	10.5		

Tabelle 10: Ergebnisse der Faktor-VIII-Aktivität (%) für 9 Tage p.i.

Tabelle 11

Versuchstier Nr.	Tage post infectionem									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
24	85	98	---	78	---	34				
26	96	132	135	98	98	74				
23	140	110	125	98	88	94	84	66		
25	115	135	135	86	65	50	41	22	20	21
27	62	112	100	57	56	63	82	67	57	48
n	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
MW	105.6	119.0	120.0	80.3	69.6	71.0	69.0	51.6		
SD	32.5	11.3	14.7	17.2	13.5	16.5	19.8	20.9		

Tabelle 11: Ergebnisse der Faktor-X-Aktivität (%) für 9 Tage p.i.

Tabelle 12

Versuchs- tier nr.	0	1	2	3	4	5	6	Tage post infectionem		
								7	8	9
8	800	800	400	400	200	200				
7	800	400	400	400	400	400	400	200	200	200
9	800	800	800	800	400	400	400	200	200	100
15	800	800	400	400	400	400	400	200	200	200
16	---	800	800	800	800	800	400	400	400	200
10	800	800	800	400	200	200	200	200	100	100
14	---	800	800	800	400	400	400	400	400	200
13	---	400	400	400	400	---	400	400	200	200
n	4	7	7	7	7	6	7	7	7	7
MW	800	685.7	628.5	571.4	428.5	433.3	371.4	285.7	257.1	171.4
SD	0.0	180.7	197.9	197.9	166.6	179.5	70.0	98.9	90.3	45.2

Tabelle 12: Ergebnisse der Faktor-XIII-Aktivität (E/ml) für 9 Tage p.i.

Tabelle 13

Versuchs- tier Nr.	Tage post infectionem									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
8	562	616	422	314	260	160				
24	386	341	---	310	---	549				
26	459		387	225	234	362				
23	364	360	311	198	207	390	495	666	---	---
6	---	372	306	322	382	376	232	488	700	---
5	---	438	448	470	576	344	541	572	364	474
7	415	---	596	480	450	406	400	374	648	660
9	480	566	436	420	300	250	334	414	430	496
15	404	380	342	334	346	360	350	336	752	648
10	---	560	438	422	292	392	446	724	657	792
25	245	297	270	200	215	215	398	612	468	522
27	249	459	315	198	217	234	252	324	462	516
10	378	488	480	418	204	338	382	374	442	588
14	---	343	404	362	420	368	340	342	328	316
13	---	470	444	440	444	356	268	316		
n	7	11	12	12	12	12	12	12	10	9
MW	370.7	421.0	407.8	360.3	344.9	336.2	370.3	461.8	525.1	556.4
SD	87.2	93.5	87.3	95.0	109.3	63.0	90.7	139.6	142.3	127.9

Tabelle 13: Ergebnisse der Fibrinogenkonzentration (mg%), für 9 Tage p.i.

Tabelle 14

Versuchs- tier Nr.	0	1	2	3	4	5	6	Tage post infectionem:		
								7	8	9
8	---	19.4	31.8	78.5	>120	>120				
6	---	23.2	37.2	23.0	45.5	76.0	>120	>120	>120	42.2
5	---	24.2	30.2	22.8	>120	>120	>120	>120	39.2	>120
7	---	19.8	---	30.8	41.2	>120	>120	>120	>120	>120
9	---	24.6	23.4	>120	>120	>120	>120	>120	>120	>120
15	17.4	11.8	13.8	>120	>120	>120	>120	>120	57.0	19.0
16	---	10.4	18.6	>120	>120	>120	>120	>120	>120	>120
10	---	28.0	24.2	>120	>120	>120	>120	>120	>120	>120
14	---	21.4	20.0	>120	>120	>120	>120	>120	>120	>120
13	---	16.8	17.6	>120	>120	>120	>120	>120	>120	>120

Tabelle 14: Ergebnisse der Thrombin-Zeit (sec) für 9 Tage p.i.

Tabelle 15

Versuchs- tier nr.	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
24	320	100	---	300	---	300				
25	0	0	0	0	150	170				
26	20	0	0	0	0	134	227	340		
27	0	0	0	14	0	0	0	112	0	215
							97	207	350	400

Tabelle 15a: Ergebnisse des quantitativen Athanoltestes (mg FC/100 ml)

24	2.1	1.6	---	1.05	---	4.2				
26	<0.5	<0.5	0.5	1.05	1.05	2.6				
23	0.5	<0.5	<0.5	<0.5	0.5	1.6	3.2	6.3		
25	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	1.05	1.05	1.6	2.1	2.6	2.6
27	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	0.5	1.05	1.6	2.6	3.2	4.7

Tabelle 15b: Ergebnisse des Protaminsulfattestes (%) für 9 Tage p.i.

Tabelle 16

Versuchs- tier Nr.	0	1	2	3	4	5	6	Tage post infectionem		
								7	8	9
8	--	33	31	31	--	32				
24	41	35	--	33	--	29				
23	39	33	34	33	32	33	29	27	19	16
6	--	47	31	32	--	25	25	31	17	--
5	--	28	26	25	21	20	18	21	17	--
7	35	33	30	--	30	--	30	23	21	13
9	--	33	32	30	--	32	--	28	11	6
15	54	43	53	34	38	--	24	13	17	9
16	--	50	53	39	37	--	25	22	12	23
10	--	48	36	34	--	33	--	29	22	16
14	--	--	31	39	--	36	34	--	30	27
13	--	--	50	41	--	36	28	24	22	
n	3	8	10	9	5	7	8	9	9	7
MW	42.6	39.3	37.6	34.1	31.6	30.7	26.6	23.0	20.0	15.7
SD	8.2	8.0	9.7	4.7	6.0	5.5	4.5	6.5	4.6	6.8

Tabelle 16: Ergebnisse des Hämatokritwertes (%) für 9 Tage p.i.

Tabelle 17

Versuchs- tier Nr.	0	1	2	3	4	5	6	Tage post infectionem		
								7	8	9
8	160	97	67	36	5	8				
24	310	195	--	56	--	4				
26	---	196	78	31	12	3				
23	465	221	132	49	36	14	6	1		
6	---	350	211	185	46	52	22	44	11	
5	---	363	349	150	193	106	68	55	35	24
7	166	148	83	32	50	20	11	13	2	41
9	160	141	81	50	56	16	12	4	2	1
15	---	151	34	46	28	16	7	2	41	41
16	---	56	25	33	39	12	4	41	41	41
25	---	130	72	61	21	20	9	6	41	41
27	---	217	95	49	17	7	3	41	41	41
10	220	215	148	84	66	25	14	3	41	41
14	147	158	82	61	50	34	21	8	1	41
13	172	105	105	55	32	35	21	14	9	3
n	6	12	12	12	12	12	12	12	11	10
MW	221.6	187.9	118.0	71.2	52.8	29.7	16.5	12.5	5.4	2.8
SD	111.1	88.1	84.4	45.5	44.4	25.8	16.7	17.3	10.4	7.1

Tabelle 17: Ergebnisse der Thrombozytenzahl (1000/mm³) für 9 Tage p.i. (Werte unter 1000 wurden bei der MW-Rechnung als Null gezählt).

LITERATUR

1. ARAUD, F.: Albuminurie et lesions des reins dans la variole.
Rev. Med. 18:392, 1898.
2. ASTRUP, T., BRANMAN, P., NISSEN, U.: The Estimation of Fibrinogen. A Revision.
Scand. J. clin. Lab. Invest. 17:57, 1965.
3. BAYER, W.L.: Purpura in Congenital and Acquired Rubella.
New Eng. J. Med. 273:1392, 1965.
4. BERGMANN, R., RASTETTER, J., KABOTH, W.: Haemorrhagische Diathesen.
In: Klinische Haematologie. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1970, S. 674.
5. BIJL, J.P.: Die bisherigen Erfahrungen über Encephalitis nach Schutzpockenimpfungen.
Zbl. des. Hyg. 17:449, 1928.
6. GREEN, F., TULLIS, J.: Ethanol Gelation: A Rapid Screening Test for Intravascular Coagulation.
Ann. Int. Med. 69:1147, 1968.
7. BRODSKY, I., SIEGEL, N.H.: The Diagnosis and Treatment of Disseminated Intravascular Coagulation.
Med. Clin. N. Am. 54:555, 1970.
8. CHATTERJEA, J.B.: Hematological and Biochemical Studies in Kyasanur Forest Disease.
Ind. J. Med. Res. 51:419, 1963.
9. COUNCILMAN, W.T., MAJUMATH, G.B., BRINCKERHOFF, W.R.: The Pathological Anatomy and Histology of Variola.
J. Med. Res. 11:12, 1904.
10. DENNIS, L.H., CARVEY, M., TAURASO, N., CONRAD, M.: Disseminated Intravascular Coagulation: A Pathogenesis for Argentinian Hemorrhagic Fever.
Clin. Res. 16:330, 1968.

11. EULER, G.: Inaugural Dissertation, Justus Liebig Universität, Gießen (im Druck).
12. FERGUSON, A.W.: Rubella as a Cause of Thrombocytopenic Purpura.
Pediatrics 25:400, 1960.
13. FORMAN, W.B., BARNHART, M.I.: Cellular site for Fibrinogen Synthesis.
J. Amer. Med. Ass. 187:128, 1964.
14. FRESH, J., REYES, V., CLARKE, E., VYLANGCO, C.: Philippine Hemorrhagic Fever. A Clinical, Laboratory, and Necropsy Study.
J. Lab. Clin. Med. 73:451, 1969.
15. GAGEL, CH., LINDER, M., MÜLLER-BERHAUS, G., LASCH, H.: Verbrauchskoagulopathie bei der Klassischen Geflügelpest.
Zbl. Vet. Med. BL7:410, 1970.
16. GLASSER, K., HOPKA, E., WETZEL, R.: Die Europäische Schweinepest.
In: Die Erkrankungen des Schweines. Scharper Verlag, Hannover, 1961, S. 120.
17. GUDAL, H.C., AALDGAARD, U.: Gelation of Soluble Fibrin in Plasma by Ethanol.
Scand. J. Haemat. 3:342, 1966.
18. GOOD, R.A., THOMAS, L.: Studies on the Generalized Schwartzman Reaction. Prevention of the Local and Generalized Schwartzman Reaction with Heparin.
J. exp. Med. 97:871, 1953.
19. HALSTEAD, S., BUSCHER, E.L.: Hemorrhagic Disease in Rodents Infected with Virus Associated with Thai Hemorrhagic Fever.
Science 134:475, 1961.
20. HARDAWAY, R.M.: Pathological Evidence of Disseminated Intravascular Coagulation in Human Shock.
In: Diffuse Intravascular Clotting. K.F. Brinkhous. F.K. Schattauer Verlag, Stuttgart, 1966, S. 249.
21. HARDISTY, R.M., McPIERSON, J.C.: A One-stage Factor-VIII (Antihaemophilic globulin) Assay, its use on Venous and Capillary Plasma.
Thrombos. Diathes. Haemorrh. 17:215, 1962.

22. HARTERT, H.: Blutgerinnungsstudien mit der Thrombelastographie, einem neuen Untersuchungsverfahren.
Lin. Wschr. 26:577, 1948.
23. HEENE, D.L.: Diskussionsbemerkung
In: Fibrinstabilisierender Faktor, Struktur des Blutgerinnsels, Krebs und Blutgerinnung.
Thrombos. Diathes. haemorrh. Suppl. 28:33, 1968.
24. HEENE, D.L.: Gerinnungsanalytische Untersuchungen zum Verhalten des fibrinstabilisierenden Faktors bei Aktivierung des Gerinnungs- und Fibrinolyse-Systems. Ein Beitrag zur Diagnostik und Genese des erworbenen Mangels an fibrinstabilisierendem Faktor.
Habilitationsschrift, Justus Liebig-Universität, Gießen, 1969.
25. HEENE, D., HOFFMANN-FEZER, G., HOFFMANN, R., WEISS, E., MÜLLER-BERHAUS, G., und LASCH, H.G.: Gerinnungsstörungen bei akuter Schweinepest.
Beitr. Path. 144:259, 1971.
26. HOFFMANN, R.: persönliche Mitteilung.
27. HUDSON, G.B., WEINSTEIN, L., CHANG, T.: Thrombocytopenic Purpura in Measels.
N. Engl. J. Med. 48:48, 1956.
28. ILLINWORTH, R.S., OLIVER, W.A.: Smallpox in the Middle East. Lessons from 100 Cases.
Lancet 2:681, 1944.
29. JÜRGENS, J.: Über das Verhalten antithrombischer Substanzen bei Erkrankungen der Leber.
Dt. Arch. Klin. Med. 200:67, 1952.
30. KIMETO, B.: Zur Pathogenese von Blutungen bei der Schweinepest.
Inaugural Dissertation, Justus Liebig-Universität, Gießen, 1971.
31. LANDELL, R.D., WATNER, R.H., BRINKHOUS, K.M.: Effect of Antihemophilic Factor on One-stage Clotting Tests.
Lab. clin. Med. 41:637, 1953.
32. LASCH, H.G., ROKA, L.: Zur Prothrombinbildung in der Leber.
Ztschr. physiol. Chem. 24:30, 1953.
33. LASCH, H.G., ROKA, L.: Über den Bildungsmechanismus der Gerinnungsfaktoren Prothrombin und Faktor VII.
Klin. Wschr. 32:460, 1954.

34. LASCH, H.G., KRECKE, H.G., RODRIGUEZ-ERDMANN, F., SESSNER, H.H., SCHÜTTERLE, U.: Verbrauchskoagulopathien (Pathogenese und Therapie). *Fol. haemat.* 6:325, 1961.
35. LASCH, H.G., ROKA, L., HEENE, D.L.: The Defibrination Syndrome.
In: Diffuse Intravascular Clotting. K.H. Brinkhous. F.K. Schattauer Verlag, Stuttgart, 1966, S. 97.
36. LASCH, H.G., HEENE, D.L., HUTH, K., SANDRITTER, W.: Pathophysiology, Clinical Manifestations and Therapy of Consumption Coagulopathy ("Verbrauchskoagulopathie"). *Amer. J. Cardiol.* 20:381, 1967.
37. LEE, L.: Reticuloendothelial Clearance of Circulating Fibrin in the Pathogenesis of the Generalized Schwartzman Reaction.
J. exp. Med. 115:1065, 1962.
38. LEE, L., PROSE, P.R., COHEN, M.H.: The Role of the Reticuloendothelial System in Diffuse, Low Grade Intravascular Coagulation.
In: Diffuse Intravascular Clotting. K.H. Brinkhous. F.K. Schattauer Verlag, Stuttgart, 1966, S. 87.
39. LILLIE, R.D.: Smallpox and Vaccina: The Pathologic Histology.
Arch. Path. 10:241, 1930.
40. LIPINSKI, E., WE RZYŃOWICZ, Z., BUDZYŃSKI, A.Z., ROPEC, E., IATALLO, Z.S., KOWALSKI, E.: Soluble Unclottable Complexes Formed in the Presence of Fibrinogen Degradation Products (FDP) during the Fibrinogen-Fibrin Conversion and Their Potential Significance in Pathology.
Thrombos. Diathes. haemorrh. 17:65, 1967.
41. LYDTIN, H., PIEPER, E., KUSUS, T., SCHMELLE, K. und ZÖLLNER, N.: Die Implantation von Verweilkathetern in die Vena portae, die Vena cava, den rechten Vorhof und in den Magen des Miniaturschweines.
Z. ges. exp. Med. 142:27, 1967.
42. MAGNUSSON, A.H.: Acute Thrombocytopenic Purpura following Rubella.
Acta Med. Scand. 120:40, 1946.
43. MCKAY, D.C., FAR ARETIAN, W.: Disseminated Intravascular Coagulation in Virus Diseases.
Arch. Int. Med. 120:12, 1967.

44. MILSTONE, H.: A Factor in Normal Human Blood which Participates in Streptococcal Fibrinolysis.
J. Immunol. 42:109, 1941.
45. MORSE, E.E., ZINKHAM, W.H., JACKSON, D.P.: Thrombocytopenic Purpura Following Rubella Infection in Children and Adults.
Arch. Intern. Med. 117:573, 1966.
46. MÜLLER-BERHAUS, G.: Pathophysiology of Disseminated Intravascular Coagulation.
In: Disseminated Intravascular Coagulation. E.F. Mannen. F.K. Schattauer Verlag, Stuttgart, 1969, S. 45.
47. PEHL K.H. SCHULZE W.: Der Virusgehalt blutfreier Organe bei der Schweinepest.
Arch. exp. Vet. Med. 12:861, 1958.
48. POTEL M.: Experimentelle Untersuchungen zur Histopathologie des Zentralnervensystems bei der akuten Schweinepest und zur Klärung ihrer Pathogenese.
Arch. exp. Vet. Med. 10:288, 1956.
49. QUICK, A.J.: The Prothrombin in Hemophilia and in Obstructive Jaundice.
J. biol. chem. 109:73, 1935.
50. RATNOFF, O.D., MENZIE, C.: A new Method for the Determination of Fibrinogen in Small Samples of Plasma.
J. Lab. clin. Med. 37:316, 1951.
51. RÖHRER, H.: Pathologisch-anatomische und Histologische Studien bei akuter Schweinepest, insbesondere an Leber und Niere.
Virchows Arch. path. Anat. 284:203, 1932.
52. RÖHRER, H.: Schweinepest.
In: Die wichtigsten Viruskrankheiten der Haustiere.
VEB Deutscher Landwirtschaftsverlag, 1962, S. 355.
53. SCHULTZE, H.E., SCHWICK, G.: Die klinische Bedeutung der differenzierten Bestimmung von Prothrombin und Acceleratoren der Blutgerinnung.
Die Medizinische 1354, 1953.
54. SCHWICK, G.: Beiträge zur Diagnostik von Gerinnungsstörungen.
Laboratoriums-Blätter f. med. Diag. 1, 1961.

55. SEIFRIED, O., CAIN, C.E.: Histological Studies on Hog Cholera. II. Lesions on the Vascular System.
J. exp. Med. 56:345, 1932.
56. SEIFRIED, O.: Neuere Forschungsergebnisse auf dem Gebiet der Histopathologie, Pathogenese und Diagnostik der Schweinepest.
Tierärztliche Rundschau 42:1, 1936.
57. SORENSEN, D.K., MARTINSONS, E., PERIAN, V.: Clinical and Hematological Manifestations of Hog Cholera.
In: Symposium on Hog Cholera. G.T. Mainwaring, ...T. Sorensen. College of Veterinary Medicine, Univ. of Minnesota, 1961.
58. SPAET, T.H., HOROWITZ, H.I., ZUCKER-FRANKLIN, D., CINTRON, J., und SIEZENSKI, J.J.: Reticuloendothelial Clearance of Blood Thromboplastin by Rats.
Blood 17:196, 1961.
59. STRUMIA, M., SAMPLE, A., HART, E.: An Improved Micro-Hematocrit Method.
Amer. J. Clin. Path. 24:1016, 1954.
60. WEISS, H., HALSTEAD, S.: Studies of Hemostasis in Thai Hemorrhagic Fever.
J. Ped. 66:918, 1965.
61. WEISS, H., HALSTEAD, S., RUSS, S.: Hemorrhagic Disease in Rodents Caused by Chikungunya Virus. Studies of Hemostasis.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 119:427, 1965.

Herrn Professor Dr. H.G. Lasch danke ich für die Überlassung des Themas und die Möglichkeit der Durchführung der Untersuchungen.

Die Durchführung der Untersuchung wurden durch die Zusammenarbeit mit Professor Dr. E. Weiss, Direktor des Veterinär-Pathologischen Institutes, und seinen Mitarbeitern, Frau Dr. G. Hoffmann-Fezer und Herrn Dr. R. Hoffmann, gemeinsam mit dem Gerinnungslabor der Medizinischen Universitäts-Klinik Gießen ermöglicht. An dieser Stelle möchte ich allen Beteiligten meinen herzlichen Dank für die gute Zusammenarbeit aussprechen. Insbesondere möchte ich Herrn Professor Dr. D. Heene für seine freundliche Hilfe und Ratschläge bei der Durchführung der Untersuchungen danken.

LEBENS LAUF

Am 11. August 1945 wurde ich, Norbert Winzler, als Sohn des Kaufmannes Hans Winzler und seiner Ehefrau Käthe geb. Ernst in Kleinmachnow bei Berlin geboren.

Meine ersten Grundschuljahre verbrachte ich in Berlin.

1956 wanderte meine Mutter mit mir nach Amerika aus. Wir zogen nach Staten Island, New York wo ich meine weitere Schul-ausbildung erhielt. Das Reifezeugnis erhielt ich im Februar 1966 an dem Rensselaer Polytechnic Institute in Troy, New York.

Im Sommersemester 1966 begann ich mit dem Studium der Medizin an der Philipps-Universität in Marburg/Lahn. Hier bestand ich die naturwissenschaftliche Vorprüfung im März 1967 und die ärztliche Vorprüfung im September 1968. Zum Sommersemester 1969 setzte ich mein Studium an der Justus-Liebig Universität in Giessen fort. Im Januar 1972 legte ich die ärztliche Prüfung an der Justus-Liebig Universität ab.

